

**PROFIL BLOOD UREA NITROGEN (BUN) DAN  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTOT PADA  
KEJADIAN RHABDOMIOLISIS AKIBAT  
INDUKSI GLISEROL PADA TIKUS  
(*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Oleh :

**VERONIKA JULIE VIGNANINGTYAS**

**115130100111020**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**PROFIL BLOOD UREA NITROGEN (BUN) DAN  
GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTOT PADA  
KEJADIAN RHABDOMIOLISIS AKIBAT  
INDUKSI GLISEROL PADA TIKUS  
(*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:  
**VERONIKA JULIE VIGNANINGTYAS**  
**115130100111020**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

### PROFIL BLOOD UREA NITROGEN (BUN) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTOT PADA KEJADIAN RHABDOMIOLISIS AKIBAT INDUKSI GLISEROL PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)

Oleh :  
**VERONIKA JULIE VIGNANINGTYAS**  
**115130100111020**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji

Pada tanggal 7 Juni 2018

Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Sasangka Prasetyawan, MS**  
NIP. 196304041987011001

**drh. Herlina Pratiwi, M.Si**  
NIP. 198705182010122010

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 196009031988022001

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Veronika Julie Vignaningtyas  
NIM : 115130100111020  
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan  
Penulis Skripsi berjudul : Profil Blood Urea Nitrogen (BUN) dan Gambaran Histopatologi Otot pada Kejadian Rhabdomyolisis Akibat Induksi Gliserol pada Tikus (*Rattus Novergicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termasuk di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2018  
Yang menyatakan,

**(Veronika Julie Vignaningtyas)**  
**NIM. 115130100111020**

## **Profil Blood Urea Nitrogen (BUN) dan Gambaran Histopatologi Otot pada Kejadian Rhabdomyolisis Akibat Induksi Gliserol pada Tikus (*Rattus norvegicus*)**

### **ABSTRAK**

Rhabdomyolisis merupakan kondisi dimana adanya kerusakan pada jaringan otot yang berakibat terlepasnya komponen serat otot (elektrolit, mioglobin, hemoglobin, dan protein intraseluler) ke darah. Rhabdomyolisis banyak terjadi pada kejadian luka bakar, dimana 50% kasusnya dapat menyebabkan gagal ginjal akut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kejadian rhabdomyolisis akibat induksi gliserol terhadap kerusakan histopatologi otot dan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, umur 14 minggu, berat rata-rata 150 gram. Tikus dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok I (kontrol negatif) diinduksi dengan aquades steril sebanyak 10 mL/kg BB secara intramuskular, kelompok perlakuan II, III, IV, dan V diinduksi gliserol 50% secara intramuskular sebanyak 10 mL/kg BB. Kelompok II post induksi gliserol jam ke 1, kelompok III pada jam ke 3, kelompok VI pada jam ke 6, kelompok V pada jam ke 12. Parameter BUN diamati dengan metode spektrofotometri dan dilanjutkan uji *Tukey*. Pada otot diamati histopatologi dengan pewarnaan hematoksin eosin (HE) menggunakan perbesaran 400 kali dengan mikroskop BX-5. Hasil penelitian menunjukkan induksi gliserol secara signifikan ( $p < 0.05$ ) terlihat adanya peningkatan kadar BUN dari kelompok II hingga kelompok V. Perubahan histopatologi meliputi adanya infiltrasi sel radang, nekrosis liquefaktif dan eksudat fibrin pada otot. Kesimpulan dari penelitian ini induksi gliserol 50% dapat meningkatkan kadar BUN dan menyebabkan kerusakan otot untuk menyerupai kejadian rhabdomyolisis.

Kata kunci : Rhabdomyolisis, Gliserol, *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan Otot Lurik

## **Blood Urea Nitrogen (BUN) Profile and Muscle Hypathology Imagery on Rhabdomyolysis Caused by Glycerol Induction on Rats (*Rattus norvegicus*)**

### **ABSTRACT**

Rhabdomyolysis was a condition where muscle tissue was damaged which led to the components of skeletal muscle cells (electrolytes, myoglobin, hemoglobin and intracellular protein) released to the blood. Rhabdomyolysis was common on burns and 50% of them could lead to acute kidney failure. The purpose of this research was to find out the effects of rhabdomyolysis caused by glycerol inductions to muscle hypathologic damage and level of *Blood Urea Nitrogen* (BUN). The test subjects were white male rats (*Rattus norvegicus*), aged 14 weeks, average weight of 150 grams. There were five groups of rats, the first (control negative) was induced by 10mL/kg (of body weight) of sterile aquades intramuscularly, the second, third, fourth and fifth group were induced by 10mL/kg (of body weight) of 50% glycerol intramuscularly. The second group was analyzed on the first hour post-glycerol induction, the third group on the third hour, the forth on the sixth hour and the fifth group on the twelveth hour. The BUN parameter was analyzed by spectrophotometry and Tukey Test. The muscle hypathology was analyzed by HE coloring using 400 times magnification on the BX-5 microscope. Research results showed, with significant glycerol induction ( $p < 0.05$ ), there was an increase in levels of BUN from the second to fifth group. Hypathologic changes included infiltration of inflammatory cells, liquefactive necrosis and fibrin exudate on muscle. The summary of this research was 50% glycerol induction could increase level of BUN and caused muscle damage similar to rhabdomyolysis.

Key words: Rhabdomyolysis, Glycerol, *Blood Urea Nitrogen* (BUN) and Striated Muscle



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini. Skripsi ini berjudul **“Profil *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan Gambaran Histopatologi Otot pada Kejadian Rhabdomyolisis Akibat Induksi Gliserol pada Tikus (*Rattus norvegicus*)”** mengikuti payung penelitian dari Drh. Ahmad Fauzi, M.Sc. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan. Tersusunnya skripsi ini berkat bantuan berbagai pihak yang telah membantu, baik berupa dorongan semangat maupun materiil.

Pada kesempatan kali ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS selaku Dosen Pembimbing I atas bimbingan, motivasi, kesabaran, ketelitian dan waktunya dalam berdiskusi demi penyelesaian skripsi ini.
2. Drh. Herlina Pratiwi, M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing dengan kesabaran, ketelitian, motivasi dan waktu dalam berdiskusi demi penyelesaian skripsi ini.
3. Drh. Ahmad Fauzi, M.Sc selaku Dosen Penguji I atas ketelitian, koreksi, kesabaran dan waktu serta semua bantuan atas kesempatan dalam penelitian dan dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Drh. Nurina Titisari, M.Sc selaku Dosen Penguji II atas ketelitian, koreksi, kesabaran dan waktu serta semua bantuan atas kesempatan dalam penelitian dan dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang beserta jajaran tim di akademik FKH UB yang sudah memotivasi penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Drh. Ahmad Fauzi, M.Sc, Drh. Nurina Titisari, M.Sc dan Staf Laboratorium Hewan Percobaan Biosains Institut UB, Laboratorium Fisiologi FK UB, dan Laboratorium Histopatologi Anatomi FK UB, yang telah membantu penulis dalam penelitian.

7. Keluarga tersayang; Mami Endang Setyaningtyas, Papa Kandari, Mas Vignadityan Zen Septariono, Mbak Angie Silvia Loren, Thomas Aquino Agung Wibisono, dan Tante Dwi Ratnawati sekeluarga yang tiada henti berdoa untuk kesuksesan dan kelancaran, serta memberikan dorongan dan motivasi.
8. Rekan seperjuangan skripsi Dhita Duhita Hayuningtyas yang saling bahu membahu dan bekerja keras dalam proses penelitian.
9. Sahabat-sahabat MMCorp, Ciwi-ciwi Gemes, Senggani's sister, Dvd, 3 Dara dan Vetasclub yang selalu memberikan dorongan, semangat, inspirasi dan keceriaan.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu per satu.

Pada akhirnya, penulis hanya bisa mengucapkan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa. Semoga tulisan ini bisa bermanfaat bagi pembaca maupun masyarakat dan penulis berharap adanya kritik dan saran yang membangun. Mohon maaf jika ada kesalahan yang disengaja maupun tidak disengaja dalam proses penulisan ini.

Malang,

Juli 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG</b> .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Rhabdomyolisis .....	6
2.1.1 Hubungan Rhabdomyolisis dan Gagal Ginjal Akut .....	7
2.2 Gliserol .....	8
2.3 Jaringan Otot .....	9
2.4 <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) .....	13
2.5 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	14
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b>	
3.1 Kerangka Konseptual .....	17
3.2 Hipotesis Penelitian .....	19
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	20
4.2 Populasi dan Sampel .....	20
4.3 Alat dan Bahan Penelitian .....	20
4.3.1 Alat .....	20
4.3.2 Bahan .....	20
4.4 Tahapan Penelitian .....	21
4.5 Rancangan Penelitian .....	21
4.6 Perhitungan Statistik .....	22
4.7 Variabel Penelitian .....	23
4.8 Prosedur Penelitian .....	23
4.8.1 Persiapan Hewan Coba .....	23
4.8.2 Pemberian Gliserol .....	24
4.8.3 Pengambilan Darah dan Organ Otot Tikus .....	24

4.8.4 Pembuatan Preparat Histopatologi Otot.....	25
4.8.5 Pengukuran Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN).....	26
4.8.6 Analisis Statistik.....	27
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Efek Pemberian Gliserol 50% terhadap Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) pada Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	29
5.2 Pengaruh Induksi Gliserol 50% terhadap Histopatologi Otot Lurik pada Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	32
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	39
<b>LAMPIRAN</b> .....	42



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan penelitian .....	22
5.1 Rata-rata kadar BUN ( <i>Blood Urea Nitrogen</i> ) .....	29



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur kimia gliserol .....	9
2.2 (a) Gambar Skematik Otot polos, (b) Histologi otot polos .....	10
2.3 (a) Gambar Skematik Otot jantung, (b) Histologi otot jantung...	<a href="#">11</a>
2.4 (a) Gambar Skematik Otot lurik, (b) Histologi otot lurik, (c) Histopatologi otot lurik yang terkena rhabdomyolisis.....	12
2.5 Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	16
5.1 Gambaran histopatologi ginjal tikus putih pada kelompok V.....	31
5.2 Gambaran histopatologi otot lurik tikus putih .....	33



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Sertifikat Laik Etik .....	<a href="#">43</a>
2 Kerangka Operasional Penelitian .....	44
3 Perhitungan Pemberian Gliserol .....	45
4 Pembuatan Preparat Histopatologi Otot.....	<a href="#">46</a>
5 Pengukuran Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) .....	<a href="#">48</a>
6 Data dan Hasil Uji Statistika.....	49



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Simbol/ Singkatan	Keterangan
°C	Derajat Celcius
%	Persen
μL	Mikroliter
μm	Mikrometer
α	Alfa
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
BB	Berat Badan
BNF	<i>Buffered Neutral Formalin</i>
BNJ	Beda Nyata Jujur
BUN	<i>Blood Urea Nitrogen</i>
BW	<i>Body Weight</i>
cc	Cubic Centimeter
C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	Gliserol
cm	Centimeter
CO <sub>2</sub>	Karbondioksida
EC	<i>Ethical Clearance</i>
EDTA	Asam Etilen Diamin Tetra Asetat
g	Gram
HCl	<i>Hydrochloric acid</i>
HE	<i>Hematoxylin-Eosin</i>
KEP-UB	Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya
kg	Kilogram
LFG	Laju Filtrasi Glomerulus
mg/dL	Miligram per Deciliter
mL	Milliliter
mm	Milimeter
mmol/L	Milimol per Liter
MN	Mononuclear
nm	Nanometer
pH	Potensial Hidrogen
PMN	Polymononuclear
RAL	Rancangan Acak Lengkap
SD	Standart Deviasi
SPSS	<i>Statistical Package for The Social Science</i>
UPHP	Unit Pengembangan Hewan Percobaan

## **Blood Urea Nitrogen (BUN) Profile and Muscle Hyspathology Imagery on Rhabdomyolysis Caused by Glycerol Induction on Rats (*Rattus norvegicus*)**

### **ABSTRACT**

Rhabdomyolysis was a condition where muscle tissue was damaged which led to the components of skeletal muscle cells (electrolytes, myoglobin, hemoglobin and intracellular protein) released to the blood. Rhabdomyolysis was common on burns and 50% of them could lead to acute kidney failure. The purpose of this research was to find out the effects of rhabdomyolysis caused by glycerol inductions to muscle hyspathologic damage and level of *Blood Urea Nitrogen* (BUN). The test subjects were white male rats (*Rattus norvegicus*), aged 14 weeks, average weight of 150 grams. There were five groups of rats, the first (control negative) was induced by 10mL/kg (of body weight) of sterile aquades intramuscularly, the second, third, fourth and fifth group were induced by 10mL/kg (of body weight) of 50% glycerol intramuscularly. The second group was analyzed on the first hour post-glycerol induction, the third group on the third hour, the forth on the sixth hour and the fifth group on the twelveth hour. The BUN parameter was analyzed by spectrophotometry and Tukey Test. The muscle hyspathology was analyzed by HE coloring using 400 times magnification on the BX-5 microscope. Research results showed, with significant glycerol induction ( $p < 0.05$ ), there was an increase in levels of BUN from the second to fifth group. Hyspathologic changes included infiltration of inflammatory cells, liquefactive necrosis and fibrin exudate on muscle. The summary of this research was 50% glycerol induction could increase level of BUN and caused muscle damage similar to rhabdomyolysis.

**Key words:** Rhabdomyolysis, Glycerol, *Blood Urea Nitrogen* (BUN) and Striated Muscle



## **Profil Blood Urea Nitrogen (BUN) dan Gambaran Histopatologi Otot pada Kejadian Rhabdmiolisis Akibat Induksi Gliserol pada Tikus (*Rattus norvegicus*)**

### **ABSTRAK**

Rhabdmiolisis merupakan kondisi dimana adanya kerusakan pada jaringan otot yang berakibat terlepasnya komponen serat otot (elektrolit, mioglobin, hemoglobin, dan protein intraseluler) ke darah. Rhabdmiolisis banyak terjadi pada kejadian luka bakar, dimana 50% kasusnya dapat menyebabkan gagal ginjal akut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kejadian rhabdmiolisis akibat induksi gliserol terhadap kerusakan histopatologi otot dan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN). Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, umur 14 minggu, berat rata-rata 150 gram. Tikus dibagi menjadi lima kelompok yaitu kelompok I (kontrol negatif) diinduksi dengan aquades steril sebanyak 10 mL/kg BB secara intramuskular, kelompok perlakuan II, III, IV, dan V diinduksi gliserol 50% secara intramuskular sebanyak 10 mL/kg BB. Kelompok II post induksi gliserol jam ke 1, kelompok III pada jam ke 3, kelompok VI pada jam ke 6, kelompok V pada jam ke 12. Parameter BUN diamati dengan metode spektrofotometri dan dilanjutkan uji *Tukey*. Pada otot diamati histopatologi dengan pewarnaan hematoksilin eosin (HE) menggunakan perbesaran 400 kali dengan mikroskop BX-5. Hasil penelitian menunjukkan induksi gliserol secara signifikan ( $p < 0.05$ ) terlihat adanya peningkatan kadar BUN dari kelompok II hingga kelompok V. Perubahan histopatologi meliputi adanya infiltrasi sel radang, nekrosis liquefaktif dan eksudat fibrin pada otot. Kesimpulan dari penelitian ini induksi gliserol 50% dapat meningkatkan kadar BUN dan menyebabkan kerusakan otot untuk menyerupai kejadian rhabdmiolisis.

Kata kunci : Rhabdmiolisis, Gliserol, *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan Otot Lurik

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG</b> .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Rhabdomyolisis .....	6
2.1.1 Hubungan Rhabdomyolisis dan Gagal Ginjal Akut .....	7
2.2 Gliserol .....	8
2.3 Jaringan Otot .....	9
2.4 <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) .....	13
2.5 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	14
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b>	
3.1 Kerangka Konseptual .....	17
3.2 Hipotesis Penelitian .....	19
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	20
4.2 Populasi dan Sampel .....	20
4.3 Alat dan Bahan Penelitian .....	20
4.3.1 Alat .....	20
4.3.2 Bahan .....	20
4.4 Tahapan Penelitian .....	21
4.5 Rancangan Penelitian .....	21
4.6 Perhitungan Statistik .....	22
4.7 Variabel Penelitian .....	23
4.8 Prosedur Penelitian .....	23
4.8.1 Persiapan Hewan Coba .....	23
4.8.2 Pemberian Gliserol .....	24
4.8.3 Pengambilan Darah dan Organ Otot Tikus .....	24

4.8.4 Pembuatan Preparat Histopatologi Otot.....	25
4.8.5 Pengukuran Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) .....	26
4.8.6 Analisis Statistik .....	27
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Efek Pemberian Gliserol 50% terhadap Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) pada Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	29
5.2 Pengaruh Induksi Gliserol 50% terhadap Histopatologi Otot Lurik pada Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	32
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	39
<b>LAMPIRAN</b> .....	42



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan penelitian .....	22
5.1 Rata-rata kadar BUN ( <i>Blood Urea Nitrogen</i> ) .....	29



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur kimia gliserol .....	9
2.2 (a) Gambar Skematik Otot polos, (b) Histologi otot polos .....	10
2.3 (a) Gambar Skematik Otot jantung, (b) Histologi otot jantung...	11
2.4 (a) Gambar Skematik Otot lurik, (b) Histologi otot lurik, (c) Histopatologi otot lurik yang terkena rhabdomyolisis .....	12
2.5 Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	16
5.1 Gambaran histopatologi ginjal tikus putih pada kelompok V .....	31
5.2 Gambaran histopatologi otot lurik tikus putih .....	33



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran		Halaman
1	Sertifikat Laik Etik .....	43
2	Kerangka Operasional Penelitian .....	44
3	Perhitungan Pemberian Gliserol .....	45
4	Pembuatan Preparat Histopatologi Otot.....	46
5	Pengukuran Kadar <i>Blood Urea Nitrogen</i> (BUN) .....	48
6	Data dan Hasil Uji Statistika.....	49



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Simbol/ Singkatan	Keterangan
°C	Derajat Celcius
%	Persen
μL	Mikroliter
μm	Mikrometer
α	Alfa
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
BB	Berat Badan
BNF	<i>Buffered Neutral Formalin</i>
BNJ	Beda Nyata Jujur
BUN	<i>Blood Urea Nitrogen</i>
BW	<i>Body Weight</i>
cc	Cubic Centimeter
C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	Gliserol
cm	Centimeter
CO <sub>2</sub>	Karbon-dioksida
EC	<i>Ethical Clearance</i>
EDTA	Asam Etilen Diamin Tetra Asetat
g	Gram
HCl	<i>Hydrochloric acid</i>
HE	<i>Hematoxylin-Eosin</i>
KEP-UB	Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya
kg	Kilogram
LFG	Laju Filtrasi Glomerulus
mg/dL	Miligram per Deciliter
mL	Milliliter
mm	Milimeter
mmol/L	Milimol per Liter
MN	Mononuclear
nm	Nanometer
pH	Potensial Hidrogen
PMN	Polymononuclear
RAL	Rancangan Acak Lengkap
SD	Standart Deviasi
SPSS	<i>Statistical Package for The Social Science</i>
UPHP	Unit Pengembangan Hewan Percobaan



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Rhabdomyolisis merupakan sebuah kondisi yang terjadi saat otot mengalami kerusakan. Kerusakan ini melepaskan pigmen mioglobin dari otot ke dalam darah. Pada kasus pada hewan tidak banyak terjadi pada anjing, dan pada hewan yang mengonsumsi makanan dengan kadar lemak yang tinggi, tetapi kasus rhabdomyolisis banyak terjadi akibat kasus luka bakar, luka bakar merupakan keadaan dimana adanya kerusakan atau kehilangan jaringan yang disebabkan adanya kontak dengan sumber panas seperti api, air panas, bahan kimia, listrik dan radiasi (Fauzi *et al.*, 2016).

Otot merupakan sistem organ pada hewan dan manusia yang digunakan sebagai alat gerak. Sistem otot dikontrol oleh sistem saraf dan walaupun beberapa otot (seperti otot jantung) dapat bergerak secara otonom. Otot merupakan suatu organ alat yang dapat bergerak ini adalah suatu yang penting bagi organisme. Gerak sel terjadi karena sitoplasma merubah bentuk. Pada sel-sel sitoplasma ini merupakan benang-benang halus yang panjang yang disebut miofibril. Kalau sel otot yang mendapatkan ransangan maka miofibril akan memendek (Nurhidayat dkk, 2011). Kerusakan otot pada penderita rhabdomyolisis melepaskan protein yang dapat menghambat filtrasi dari ginjal sehingga dapat menyebabkan gagal ginjal (Vetlearn, 2011).

Rhabdomyolisis juga dapat menyebabkan gagal ginjal. Ginjal dalam kondisi normal biasanya menyaring pigmen dari darah. Namun mioglobin yang meningkat akibat adanya kerusakan otot dapat menyebabkan gangguan pada

tubulus ginjal karena menghalangi struktur penyaringan. Terjadilah gagal ginjal yang merupakan komplikasi serius yang disebabkan oleh adanya vasokonstriksi renal, pembentukan batu intraluminal dan toksisitas langsung oleh mioglobulin. Terdapat 8-15% dari semua kasus gagal ginjal akut. Sekitar 5% dari kasus rhabdmiolisis mengakibatkan kematian (Jacobson *and* Lobetti, 2016).

Gagal ginjal dapat dinilai dari kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) yang merupakan hasil metabolisme protein dalam tubuh yang dikeluarkan tubuh melalui ginjal dan kadarnya meningkat apabila terjadi gangguan atau kerusakan pada ginjal. Penyebab dari rhabdmiolisis dapat berasal dari berbagai racun dan obat-obatan, yang salah satunya dengan penginduksian gliserol, yang kedalam tubuh dapat merusak organ hati, otot dan ginjal (Deighan *et al.*, 2000).

Induksi yang digunakan yaitu dengan gliserol, fungsinya sebagai pembuatan hewan coba rhabdmiolisis. Gliserol adalah senyawa golongan alkohol polihidrat dengan 3 buah gugus hidroksil dalam satu molekul yang bersifat hidrofilik dan higroskopik. Gliserol memiliki struktur molekul  $C_3H_8O_3$  dengan tiga gugus hidroksil yang bertanggung jawab untuk kelarutannya dalam air dan dalam higroskopisnya. Pada dunia industri farmasi dan medis digunakan sebagai obat pencahar, memberikan pelumasan dan sebagai humektan. Gliserol dapat digunakan sebagai obat pencahar saat diaplikasikan ke dalam rectum dalam bentuk enema dengan volume kecil (2-10 ml) (Christoph *et al.*, 2006).

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh injeksi gliserol terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) serta mengetahui gambaran histopatologi otot pada kejadian rhabdmiolisis

dengan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 5 (lima) kelompok, antara lain 1 (satu) kelompok kontrol dan 4 (empat) kelompok perlakuan, yang pada jam ke 0 kelompok kontrol di induksi menggunakan aquadest steril dan kelompok perlakuan di induksi menggunakan gliserol 50%. Dan dilakukan pembedahan pos induksi pada jam ke 1, 3, 6, dan 12.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dilakukannya penelitian ini, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah terjadi kenaikan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) pada kejadian rhabdomyolisis akibat induksi gliserol pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Apakah terjadi kerusakan pada histopatologi otot pada kejadian rhabdomyolisis akibat induksi gliserol pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

## 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Wistar*, berjumlah 20 ekor, berumur 14 minggu dengan berat badan 150-200 g yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM. Penggunaan hewan coba telah mendapatkan laik etik dari

Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya (KEP UB) dengan No. 289/EC/KEPK/04/2015 (**Lampiran 1**).

2. Gliserol ( $C_3H_8O_3$ ) yang digunakan yaitu gliserol 50% injeksi secara intramuskular diperoleh dari gliserol murni 100% ditambah aquadest steril dengan perbandingan 1:1 kemudian diinjeksikan ke hewan coba dengan volume 10mL/kgBB (Fauzi *et al.*, 2016). Gliserol diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
3. Waktu yang digunakan untuk induksi aquadest steril pada kelompok kontrol dan induksi gliserol pada kelompok perlakuan yaitu jam ke 0. Lalu dilakukan pengamatan pos induksi yaitu pada jam ke 1, 3, 6, dan 12 (**Lampiran 2**).
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) diukur dengan metode spektrofotometri dan gambaran histopatologi otot dilakukan menggunakan pewarnaan Hematoxylin-Eosin.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh kejadian rhabdmiolisis akibat induksi gliserol terhadap kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh kejadian rhabdmiolisis akibat induksi gliserol terhadap kerusakan histopatologi otot pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi kepada masyarakat bahwa penderita rhabdomyolisis, terlebih disebabkan oleh luka bakar, tidak hanya otot yang mengalami kerusakan tetapi juga dapat menyebabkan gagal ginjal akut, sehingga dalam fase pengobatan lebih baik tidak memberikan obat yang dapat memperberat fungsi ginjal.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Rhabdomyolisis

Rhabdomyolisis merupakan kondisi yang terjadi saat adanya cedera atau kerusakan pada jaringan otot yang berakibat terlepasnya komponen serat otot (elektrolit, mioglobin, hemoglobin, dan protein intraseluler) ke dalam darah. Rhabdomyolisis lebih umum terjadi pada manusia, yaitu orang dewasa, meskipun juga dapat mengancam anak-anak dan remaja yang dilahirkan dengan kekurangan enzim yang dibutuhkan karbohidrat dan metabolisme lemak, atau yang memiliki penyakit otot genetik. Sedangkan pada hewan biasa terjadi pada anjing, terutama anjing penarik kereta luncur, dan pada hewan yang mengonsumsi makanan tinggi lemak yang berfungsi untuk menghasilkan tenaga yang besar (Piercy *et al.*, 2001).

Penyebab dari pasien yang terkena rhabdomyolisis pada umumnya memiliki riwayat anggota keluarga yang terkena penyakit tersebut. Selain itu penyebab lain dari rhabdomyolisis dibagi menjadi 2, antara lain penyebab fisik (*traumatik*) dan non-fisik (*non-traumatik*). Penyebab fisik antara lain berupa kerusakan jaringan otot dalam jumlah yang besar, terkena racun serangga atau racun ular, oklusi pembuluh darah otot, aktivitas otot yang berat, tenanus, hipertermia, dan yang paling sering terjadi akibat luka bakar. Sedangkan penyebab non-fisik antara lain overdosis obat-obatan dan toksin (termasuk pestisida), konsumsi alkohol dalam jangka waktu lama, infeksi virus maupun bakteri, miopati metabolik, serta gangguan endokrin dan elektrolit (Knochel, 2013).

Gejala yang ditimbulkan rhabdomyolisis bervariasi tergantung pada penyebab rhabdomyolisis, dari gejala yang ringan hingga berat yang bahkan dapat mengancam nyawa. Gejala yang paling umum adalah pegal-pegal, bengkak pada otot, kekakuan pada otot, kram dan nyeri, demam, tubuh menjadi lemah dan lesu, mual dan muntah, perubahan warna pada otot yang terkena, terdapat tanda-tanda dehidrasi dan denyut jantung yang cepat, serta urin yang berwarna coklat gelap atau kemerahan atau keunguan yang kemudian akan berlanjut dengan berkurangnya urin dan bahkan berhentinya produksi urin. Bila gejala ditahap tidak mampu memproduksi urin ini merupakan gejala gagal ginjal. Gejala pada otot yang timbul dapat terjadi secara keseluruhan atau terjadi secara spesifik. Otot yang paling sering terkena yaitu otot lurik atau otot rangka. Pada gejala yang berat dapat ditemukan penurunan kesadaran hingga koma (Curry *et al.*, 2009).

Komplikasi serius dari rhabdomyolisis antara lain gagal ginjal akut, sindrom kompartemen dimana cedera otot menyebabkan pembengkakan dan peningkatan tekanan. Hal ini menyebabkan sirkulasi yang dapat membahayakan jaringan yang terkena. Selain itu rhabdomyolisis juga dapat menyebabkan kelainan elektrolit dalam darah. Karena cedera otot, isi sel-sel otot bisa dilepaskan ke dalam darah yang menyebabkan tingginya kadar kalium (hiperkalemia) dan fosfor (hiperphosphatemia) (Deighan *et al.*, 2000).

### **2.1.1 Hubungan Rhabdomyolisis dan Gagal Ginjal Akut**

Salah satu komplikasi yang sering terjadi pada penderita rhabdomyolisis adalah gagal ginjal akut. Hal ini dapat terjadi karena adanya cedera langsung

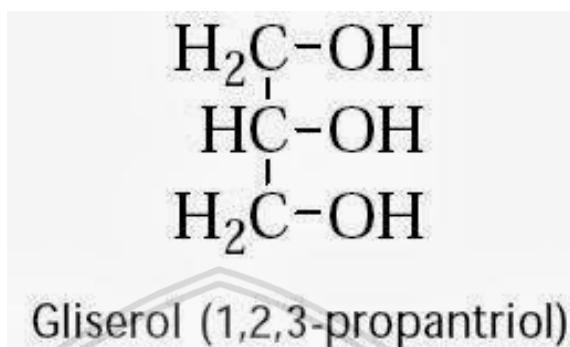


pada ginjal dan penyumbatan di bagian penyaringan dari ginjal oleh protein otot yang menyebabkan penurunan fungsi ginjal dalam kasus rhabdomyolisis (Fauzi *et al.*, 2016). Ginjal saat dalam kondisi normal biasanya menyaring pigmen dari darah. Namun apabila jaringan otot yang mengalami kerusakan sehingga komponen serat otot yang terlepas ke dalam aliran darah yang dapat mengganggu dan menyumbat sistem penyaringan pada glomerulus, sehingga dapat menyebabkan gagal ginjal akut. Gagal ginjal akut ditandai dengan gejala yang timbul secara tiba-tiba dan penurunan volume urin secara cepat, laju filtrasi glomerulus (LFG) yang menurun secara tiba-tiba hingga dibawah 15mL/menit. Hal ini mengakibatkan peningkatan kadar serum urea, dan kreatinin (Deighan *et al.*, 2000).

## 2.2 Gliserol

Gliserol merupakan sebuah komponen utama dari semua lemak dan minyak, yang merupakan senyawa alkohol polihidrat dengan 3 buah gugus hidroksil dalam satu molekul yang memiliki sifat hidrofilik dan higroskopik. Gliserol disebut juga 1,2,3-propanatriol memiliki struktur molekul  $C_3H_8O_3$  dengan 3 gugus hidroksil yang berperan untuk kelarutannya (**Gambar 2.1**). Gliserol adalah salah satu contoh dari alkohol trihidroksi yang merupakan alkohol yang di dalam molekulnya memiliki 2 buah gugus -OH. Gliserol di dalam laboratorium digunakan sebagai pelarut karena memiliki sifat higroskopis. Di dalam bidang industri gliserol digunakan sebagai bahan pembuat parfum, pelumas, dan digunakan sebagai bahan pembuat kosmetik karena gliserol dapat melembutkan kulit. Salah satu bahan baku pembuatan

gliserol yaitu dengan cara hidrolis lemak menggunakan NaOH dan hidrolisis 1,2,3-trikloropropana menggunakan  $K_2CO_3$  dan  $H_2O$  (Chistoph *et al.*, 2006).



**Gambar 2.1** Struktur kimia gliserol (Chistoph *et al.*, 2006).

Bentuk fisik dari gliserol yaitu tidak berwarna, tidak berbau, berbentuk cairan kental yang terasa manis saat dikecap akan tetapi bersifat toksisitas yang rendah jika tertelan. Larut dalam air dan alkohol pada segala perbandingan, sedikit larut pada eter dan dioksan, tetapi tidak larut dalam hidrokarbon (Lochhead *and* Zager, 2008). Pada suhu rendah, gliserol terkadang membentuk kristal yang cenderung meleleh pada suhu  $18^{\circ}C$ . Gliserol yang cair mendidih pada suhu  $290^{\circ}C$  dibawah tekanan atmosfer normal. Berat jenis  $1,26 \text{ g/cm}^3$  dan berat molekul adalah  $92,09 \text{ g/mol}$  (Lin, 2009). Hewan coba yang diinduksi dengan gliserol fungsinya sebagai pembuatan hewan model rhabdomyolisis.

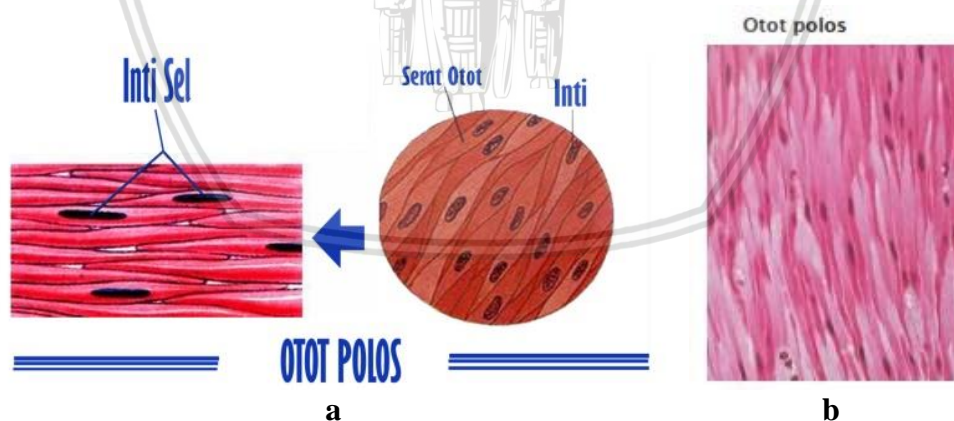
### 2.3 Jaringan Otot

Sistem gerak yang dimiliki tubuh manusia dan hewan sangat dipengaruhi oleh adanya jaringan otot. Jaringan otot tersusun atas sel-sel otot dan miofibril yang fungsinya menggerakkan organ-organ tubuh untuk menjalankan kegunaan dari organ, contohnya seperti gerakan jantung untuk memompa darah, gerakan lambung untuk melumatkan makanan, gerakan

kelopak mata, serta gerakan kaki dan tangan (Akoso, 2011). Kemampuan tersebut disebabkan karena jaringan otot mampu berkontraksi. Kontraksi otot dapat berlangsung karena molekul-molekul protein yang membangun sel otot dapat memanjang dan memendek. Sel otot dapat berkontraksi karena mengandung protein kontraktif yang disebut miofibril. Miofibril terbuat dari protein kontraktilektin dan miosin. Serabut otot tersusun menjadi berkas parallel yang kemudian membentuk otot. Diperlukan energi yang cukup besar untuk menghasilkan kontraksi aktin dan miosin yang diperoleh dari hasil respirasi sel (Sundawa, 2014).

Pada kelompok hewan vertebrata (bertulang belakang) terdapat tiga jenis jaringan otot yang menyusun organ hewan tersebut. Ketiganya memiliki fungsi, ciri-ciri dan system kerja yang berbeda-beda, antara lain:

1. Jaringan otot polos

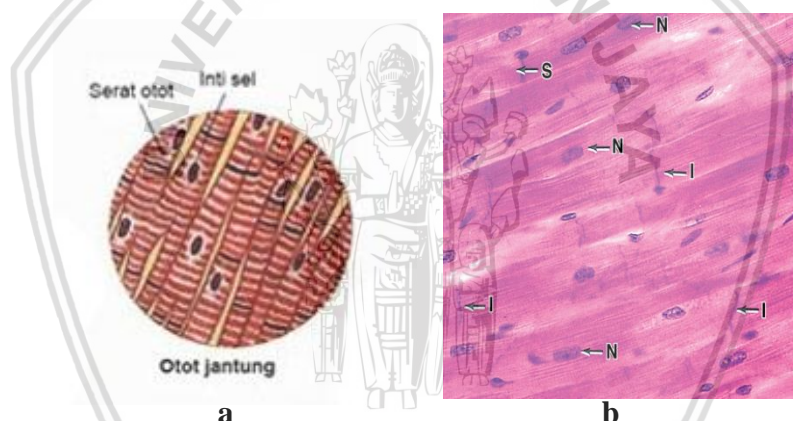


**Gambar 2.2** (a) Gambar Skematik Otot polos, (b) Histologi otot polos (Evans and deLahunta, 2013)

Ciri-ciri jaringan otot polos pada hewan adalah mempunyai serabut-serabut (fibril) yang homogen sehingga bila diamati di bawah mikroskop tampak polos atau tidak bergaris-garis. Otot polos mempunyai bentuk seperti

gelendong pada sel di jaringan dan melancip di kedua ujungnya, sifatnya elastis memiliki sebuah nukleus di bagian tengah selnya, ada serabut halus yang melintang pada jaringan tidak terlihat (**Gambar 2.2**). Terletak di dinding organ-organ dalam tubuh, seperti saluran organ pencernaan, pernafasan, reproduksi, pembuluh darah dan saluran ekskresi. Bila otot polos dirangsang, reaksi lambat tetapi bekerja tanpa lelah dalam waktu yang lama, dan bekerja secara refleks dan dibawah pengaruh saraf otonom sehingga termasuk jenis otot involunter (tidak dikontrol oleh otak) (Evans *and* deLahunta, 2013).

## 2. Jaringan otot jantung

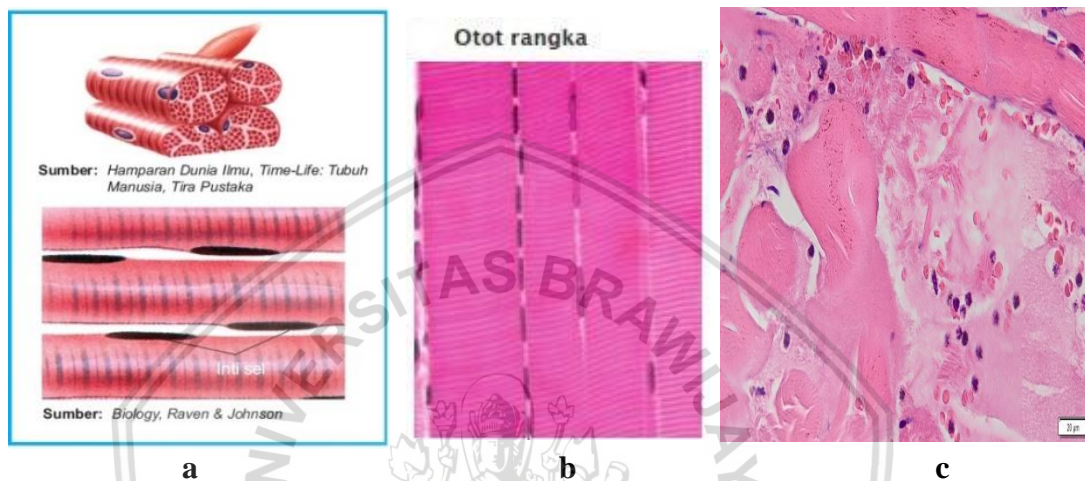


**Gambar 2.3** (a) Gambar Skematik Otot jantung, (b) Histologi otot jantung (Nurhidayat, dkk., 2011)

Jantung tersusun atas otot jantung, yang hanya ditemukan di jantung dan bersifat otot involunter serta selnya dilengkapi serabut saraf dari sarafotonom. Struktur otot jantung disesuaikan dengan fungsi jantung yang memompa darah ke seluruh tubuh. Ciri-ciri jaringan otot jantung pada hewan adalah berbentuk silindris atau serabut pendek, mempunyai diskus interkalaris, yait pertemuan dua sel yang tampak gelap jika dilihat dengan mikroskop (**Gambar 2.3**). Otot ini tersusun atas serabut lurik yang bercabang-cabang dan

saling berhubungan satu dengan lainnya. Setiap sel otot jantung mempunyai satu atau dua inti yang terletak di tengah sarkoplasma. Memiliki reaksi sedang, namun bekerja tanpa lelah dalam waktu yang lama (Nurhidayat, dkk., 2011).

### 3. Jaringan Otot Lurik



**Gambar 2.4** (a) Gambar Skematik Otot lurik, (b) Histologi otot lurik (Nurhidayat, dkk., 2011), (c) Histopatologi otot lurik yang terkena rhabdomyolisis (Fauzi *et al.*, 2016)

Jaringan otot lurik atau disebut juga dengan jaringan otot rangka merupakan jenis otot yang melekat pada seluruh rangka, bersifat volunter (bekerja di bawah pengaruh kesadaran) oleh karena itu tidak mampu bekerja lama karena akan menimbulkan rasa lelah. Selain untuk menggerakkan tulang dan sistem rangka, fungsi otot lurik juga terkait dengan sarana pelindung rangka dari benturan luar dan tempat melekatnya jaringan lemak (Nurhidayat, dkk., 2011). Diberi nama otot lurik karena susunan protein aktin dan miosinnya saling bertumpang tindih sehingga bila dilihat di bawah mikroskop tampak adanya garis gelap (anisotrop) dan terang (isotrop) berselang-seling melintang di sepanjang serabut otot (**Gambar 2.4**) (Evans and deLahunta, 2013). Otot lurik inilah yang disebut dengan daging. Ciri-ciri dari otot lurik, yaitu sel atau



serabut otot lurik berbentuk silindris atau serabut panjang, setiap sel mempunyai banyak inti dan terletak di bagian tepi sarkoplasma, melindungi rangka dari benturan keras, dan pada otot yang terkena rhabdomyolisis menunjukkan adanya nekrosis pada jaringan otot (Fauzi *et al.*, 2016). Pada penelitian ini lebih difokuskan pada otot lurik, karena penginduksian gliserol 50% dilakukan pada otot lurik kaki belakang bagian paha.

#### 2.4 Blood Urea Nitrogen (BUN)

*Blood Urea Nitrogen* (BUN) merupakan hasil metabolisme protein yang diproduksi tubuh. Tubuh menghilangkan urea melalui filtrasi ginjal, sehingga pengukuran *Blood Urea Nitrogen* (BUN) merupakan estimasi akurat seberapa baik filtrasi ginjal bekerja. Pemeriksaan *Blood Urea Nitrogen* (BUN) digunakan sebagai indikator untuk mengetahui terjadinya gangguan pada ginjal (Wulandari dkk., 2012). Gangguan pada fungsi ginjal dapat diketahui melalui pengukuran beberapa bahan-bahan hasil metabolisme diantaranya adalah urea dan kreatinin. Urea dan kreatinin digunakan sebagai indikator fungsi ginjal. Kadar urea dipengaruhi beberapa faktor, namun kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) masih merupakan parameter kerusakan ginjal yang signifikan. Urea nitrogen darah merupakan hasil metabolisme protein normal. Tahapan pembentukan urea dimulai dengan derivat asam amino ornitin yang bergabung dengan satu molekul karbondioksida dan satu molekul amonia untuk membentuk zat kedua yaitu sitrulin. Sitrulin kemudian bergabung dengan molekul amonia lain untuk membentuk arginin, yang kemudian dipecah

menjadi ortinin dan urea. Urea berdifusi dari sel hati ke cairan tubuh dan dikeluarkan melalui ginjal berupa urin (Rasyad dkk., 2012).

*Blood Urea Nitrogen* (BUN) secara bebas disaring, tidak disekresikan, tetapi diserap kembali oleh tubulus ginjal. Reabsorpsi urea tergantung aliran urin sehingga urea lebih banyak diserap pada tingkat aliran urin yang lebih rendah. Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) diperiksa melalui serum diukur dengan metode spektrofotometri dengan alat spektrofotometer (Schrier, 2008). Pengukuran berdasarkan reaksi enzimatis dengan diasetil monoksim yang memanfaatkan enzim *urease* yang sangat spesifik terhadap urea. Nilai normal urea tikus adalah 15-21 mg/dL. Peningkatan urea dapat terjadi pada kondisi antara lain gagal ginjal, infeksi ginjal, pengaruh toksik pada ginjal, gagal jantung karena penurunan perfusi ginjal, dehidrasi, *shock*, perdarahan saluran cerna, akut miokard infark, stres, dan *intake* protein berlebihan (Winarno dan Sundari, 2010).

Peningkatan kadar urea disebut juga dengan uremia. Uremia terjadi karena gagalnya mekanisme yang bekerja sebelum filtrasi oleh glomerulus. Mekanisme tersebut meliputi penurunan aliran darah ke ginjal dan peningkatan katabolisme protein seperti pada rhabdomyolisis, perdarahan gastrointestinal, hemolisis, leukemia (pelepasan protein leukosit), cedera fisik berat, dan demam (Vetlearn, 2011).

## 2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

*Rattus norvegicus* strain *Wistar* adalah tikus yang berasal dari Asia. *Rattus norvegicus* atau disebut juga tikus putih merupakan salah satu hewan



percobaan yang banyak digunakan di laboratorium karena dapat berkembang biak dalam jumlah yang besar dan cepat sehingga mudah untuk dikembangbiakkan. Kelebihan penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba adalah tidak mudah muntah karena struktur anatomi yang tidak biasa pada esophagus yang bermuara ke dalam empedu dan tidak mempunyai kantung empedu, selain itu secara garis besar fungsi dan organ serta proses biokimia dan biofisika antara tikus dan manusia memiliki banyak kemiripan (Porter, 2005).

Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Sirois (2005) adalah sebagai berikut :



Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata (Craniata)
Kelas	: Mamalia
Sub Kelas	: Theria
Infrakelas	: Eutharia
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Myomorpha
Super Famili	: Muroidea
Famili	: Muridae
Sub Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

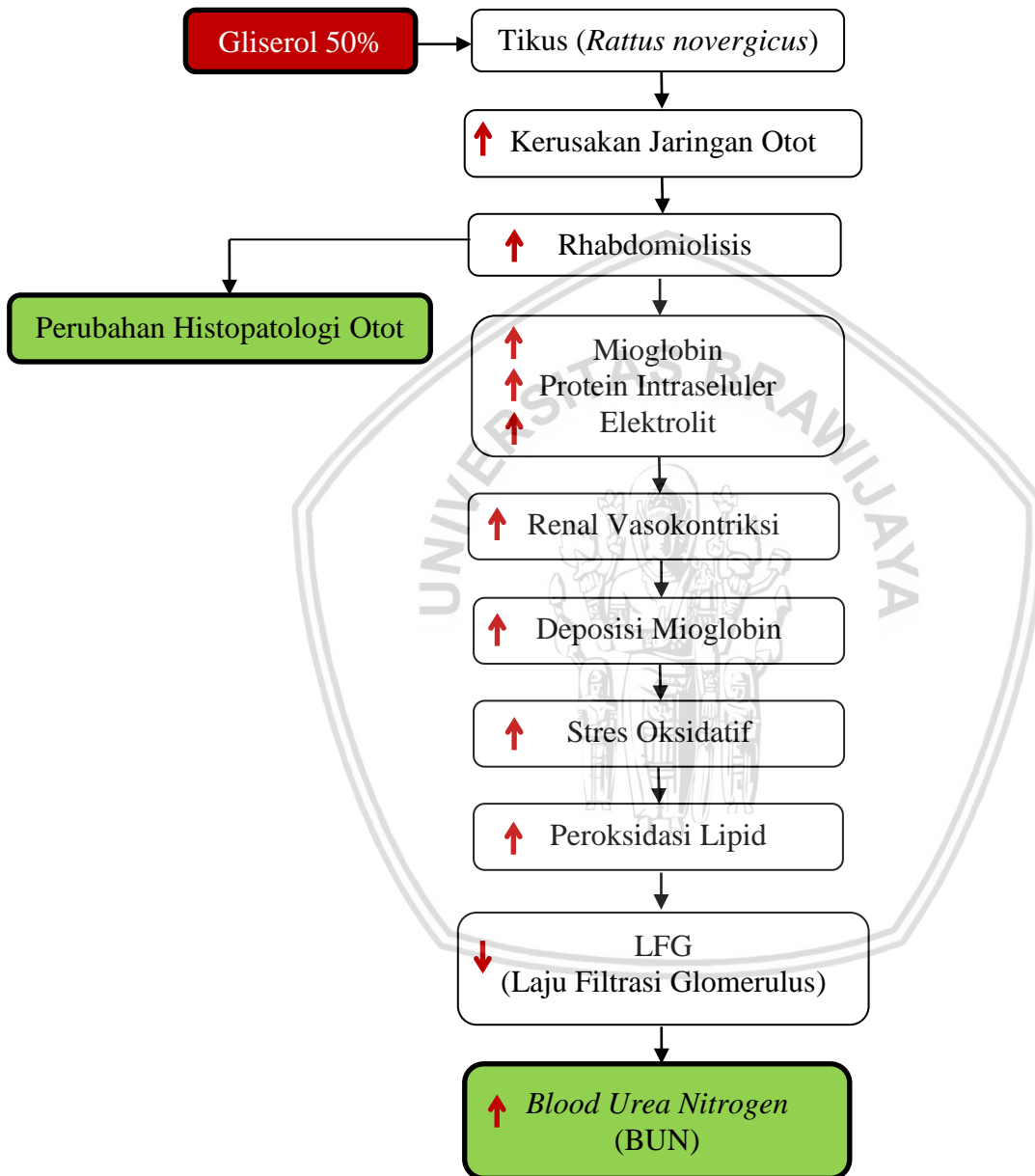


**Gambar 2.5** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Sirois, 2005).

Tikus putih memiliki ekor panjang yang memiliki sedikit bulu dan memiliki deretan lingkaran sisik. Ciri-ciri morfologi tikus putih antara lain memiliki berat 150-600 g, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, mata berwarna merah, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (**Gambar 2.5**), serta dapat berumur 4-5 tahun (Mutiyani, 2005).

## BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konseptual



**Gambar 3.1** Kerangka konseptual penelitian

Keterangan :

     : paparan

     : parameter yang diamati

↓ ↑ : efek gliserol

↓ : mempengaruhi

Hewan coba tikus (*Rattus novergicus*) diinduksi menggunakan gliserol 50% melalui intramuskular pada otot *gastronecmius*. Gliserol merupakan senyawa alkohol yang memiliki sifat hidrofilik dan higroskopik, bila diinduksikan ke dalam jaringan otot dapat menyebabkan kerusakan, ini merupakan salah satu gejala dari rhabdomyolisis. Salah satu penyebab dari rhabdomyolisis adalah alkohol (Bangley *et al.*, 2007).

Hal ini menyebabkan peningkatan mioglobin, protein intraseluler, dan elektrolit, serta adanya kerusakan pada jaringan otot maka dapat merubah gambaran histologi otot. Rhabdomyolisis yang disebabkan oleh induksi gliserol memiliki dampak yang sama dengan kejadian pada penderita luka bakar akibat kebakaran (Fauzi *et al.*, 2016). Berlebihnya jumlah mioglobin, protein intraseluler, dan elektrolit yang tidak terkendali darah terbawa sirkulasi darah ke ginjal sehingga menyebabkan renal vasokonstriksi (Zager, 1992). Kenaikan jumlah mioglobin juga meningkatkan stres oksidatif pada ginjal, sehingga dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid di lapisan fosfolipid membran sel ginjal sehingga sel menjadi rusak dan terjadi nekrosis pada tubulus (Setiawan dan Eko, 2007).

Kerusakan jaringan pada tubulus ginjal akan dapat menyebabkan obstruksi pada glomerulus. Hal ini menyebabkan menurunnya laju filtrasi glomerulus (LFG) sehingga filtrat glomerulus/urin primer tidak terfiltrasi dengan sempurna dan masuk kembali ke dalam tubuh melalui pembuluh darah. Zat berupa urea yang tidak terfiltrasi oleh ginjal akan masuk lagi ke pembuluh darah sehingga menyebabkan bertambahnya kadar urea dalam darah.

Meningkatnya kadar urea dalam darah dapat dilihat dari jumlah kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) yang meningkat. Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) yang meningkat menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal (Wulandari dkk, 2012).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh kejadian rhabdomiolisi akibat induksi gliserol. Dimana pada penelitian ini, diamati kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) apakah terjadi kenaikan kadar setelah dilakukan induksi gliserol dan terkena rhabdomiolisis. Selain itu, diamati pula gambaran histopatologi otot dari musculus *gastronecmeus* dimana letak diinduksinya gliserol pada kedua kaki kanan dan kirim, apakah mengalami kerusakan setelah diinduksi gliserol dan terkena rhabdomiolisis.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas induksi gliserol pada hewan model rhabdomiolisis dapat meningkatkan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan menimbulkan kerusakan histopatologi otot lurik tikus putih (*Rattus novergicus*).

## BAB 4. METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 25 Juni 2015 – 26 Juli 2015 di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang. Pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan pembuatan preparat organ otot di Laboratorium Patologi Klinik dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

### 4.2 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain *Wistar* berumur 14 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Tikus ini diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP), Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

### 4.3 Alat dan Bahan Penelitian

#### 4.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang metabolik, timbangan digital, papan bedah, jarum pentul, spuit, *gloves*, masker, *tissue*, *plastic seal*, mikrohematokrit, venoject non EDTA, *pot sample*, *dissecting set*, kertas label, spidol, *object glass*, *cover glass*, *micropipet*, sentrifus.

#### 4.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain *Wistar* umur 14 minggu, berat badan 150-200 gram, alkohol, aquades, ketamine, Gliserol *injection*, *buffer formalin*.

#### 4.4 Tahapan Penelitian

1. Rancangan penelitian dan persiapan hewan coba.
2. Penentuan dosis induksi gliserol 50%.
3. Penginduksian aquades steril pada kelompok I, dan gliserol 50% pada kelompok II, III, IV, dan V.
4. Pengambilan darah.
5. Pengambilan organ musculus bisept femoris tikus.
6. Pembuatan dan pengamatan preparat histopatologis.
7. Pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN).
7. Analisis data.

#### 4.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan desain *post test only control group* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengambilan data dilakukan hanya pada saat akhir penelitian setelah dilakukannya perlakuan dengan membandingkan hasil pada kelompok yang diberi perlakuan dengan kelompok yang tidak diberi perlakuan. Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana dimana subjek dibagi menjadi 5 kelompok. Setiap kelompok hewan coba terdiri dari masing-masing 4 ekor hewan coba. Kelompok I adalah kelompok tikus setelah 12 jam pasca puasa diinduksi dengan aquades steril 10 mL/kg BB secara intramuskular (kontrol negatif). Kelompok II adalah kelompok tikus yang diinduksi dengan gliserol 50% 10 mL/kg BB secara intramuskular, setelah 12 jam pasca puasa dan pada jam ke-1 setelah diinduksi dilakukan eutanasi. Kelompok III adalah kelompok tikus yang diinduksi dengan



gliserol 50% 10 mL/kg BB secara intramuskular, setelah 12 jam pasca puasa dan pada jam ke-3 setelah diinduksi dilakukan eutanasi. Kelompok IV adalah kelompok tikus yang diinduksi dengan gliserol 50% 10 mL/kg BB secara intramuskular, setelah 12 jam pasca puasa dan pada jam ke-6 setelah diinduksi dilakukan eutanasi. Kelompok V adalah kelompok tikus yang diinduksi dengan gliserol 50% 10 mL/kg BB secara intramuskular, setelah 12 jam pasca puasa dan pada jam ke-12 setelah diinduksi dilakukan eutanasi.

**Tabel 4.1** Rancangan penelitian

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
Kelompok I (kontrol negatif)						
Kelompok II (induksi gliserol 50% 10 mL/kgBB + pada jam ke-1 eutanasi)						
Kelompok III (induksi gliserol 50% 10 mL/kgBB + pada jam ke-3 eutanasi)						
Kelompok IV (induksi gliserol 50% 10 mL/kgBB + pada jam ke-6 eutanasi)						
Kelompok V (induksi gliserol 50% 10 mL/kgBB + pada jam ke-12 eutanasi)						

(Susetyarini, 2007)

#### 4.6 Perhitungan Statistik

Menurut Kusningrum (2008), estimasi besaran sampel dapat dihitung berdasarkan rumus berikut;

$$p(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

p : jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan

Dari perhitungan diatas untuk penelitian yang memiliki perlakuan sebanyak lima macam diperoleh hasil, yaitu jumlah pengulangan sebanyak lebih dari atau sama dengan empat kali, sehingga jumlah minimal sampel penelitian yang digunakan sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*).

#### 4.7 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas : pemberian gliserol
- Variabel tergantung : kadar BUN dan gambaran histopatologi otot.
- Variabel kontrol : tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar, jenis kelamin jantan, berat badan 150-200 g, umur 8-12 minggu, kandang, suhu lingkungan dan pakan.

#### 4.8 Prosedur Penelitian

##### 4.8.1 Persiapan Hewan Coba

Aklimatisasi hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang berusia 14 minggu dengan berat antara 150-200 g selama satu minggu untuk adaptasi di tempat pemeliharaan dalam menyeragamkan cara hidup dan makanannya sebelum dilakukan percobaan. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik dengan tutup terbuat dari kawat ram dan dialasi sekam. Selama aklimatisasi, pakan yang diberikan berupa *BR-I* dan air minum diberikan secara *ad-libitum*. Lingkungan kandang dibuat agar tidak lembab, suhu kandang dijaga sekitar 25°C, dan ada pertukaran gelap dan terang setiap 12 jam. Kesehatan tikus dipantau setiap hari dan berat badan tikus ditimbang sebelum dilakukan perlakuan. *Etical approval* dalam penggunaan

hewan coba telah mendapat persetujuan dari Komisi Laik Etik Universitas Brawijaya Malang dengan No. 289/EC/KEPK/04/2015.

#### 4.8.2 Pemberian Gliserol

Induksi gliserol pada tikus dilakukan secara intramuskular pada musculus biseptus femoris. Gliserol yang diberikan adalah gliserol 50% didapat dari gliserol murni 100% ditambah aquades *pro injection* dengan perbandingan 1:1. Kemudian disuntikkan ke hewan coba pada kelompok II, III, IV dan V dengan volume 10mL/kgBB. Penginduksian gliserol 50% secara intramuskular dengan volume 10mL/kgBB pada hewan coba adalah cara yang paling tepat secara klinis untuk menyebabkan rhabdomyolisis yang berpotensi gagal ginjal akut (Singh *et al*, 2012).

#### 4.8.3 Pengambilan Darah dan Organ Otot Tikus

Pengambilan darah dan musculus biseptus femoris tikus dengan cara eutanasi dengan cara melakukan anestesi ketamine 0,1 mL/ekor. Tikus diletakkan pada papan bedah dengan posisi rebah dorsal. Sebelum pembedahan, kaki dan mulut tikus difiksasi menggunakan jarum. Pembedahan dimulai melalui abdominal hingga terlihat semua organ dalam. Jantung terletak didalam rongga dada sebelah kiri, dan terbungkus oleh perikardium. Darah dikoleksi dari jantung tikus menggunakan *sprit* 4 cc, dimasukkan ke venoject non EDTA 4 cc dan didiamkan dalam kondisi kemiringan 30-45° selama 15-20 menit. Kemudian dimasukkan ke dalam *plastic seal* dan disimpan ke dalam lemari pendingin.

Otot yang digunakan yaitu musculus biseptus femoris bagian kanan dan

kiri dipotong  $\pm$  1cm. Otot disimpan di dalam *pot sample* berisi larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10% untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme, dan mengawetkan komponen histologi.

#### 4.8.4 Pembuatan Preparat Histopatologi Otot

Pembuatan preparat histopatologi diawali dengan fiksasi jaringan otot ke dalam larutan BNF 10%. Jaringan yang sudah mengalami fiksasi dilakukan proses dehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat (alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%). Langkah selanjutnya adalah proses *clearing* yaitu penjernihan jaringan dalam larutan xylol selama dua jam. Dilanjutkan dengan *embedding* yaitu penanaman jaringan ke dalam parafin cair. Jaringan yang berada di dalam blok parafin yang telah membeku kemudian dipotong dengan ketebalan 5-6  $\mu$ m. Potongan jaringan diletakkan di atas air hangat, lalu diangkat dan diletakkan di atas gelas objek. Potongan jaringan dan gelas objek dikeringkan dalam inkubator dengan suhu 60°C selama 24 jam. Sediaan yang telah melekat sempurna pada gelas objek kemudian siap diwarnai dengan teknik pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE).

Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) dilakukan dengan tahapan deparafinasi, dimana preparat dimasukkan dalam xylol bertingkat 1-3 masing-masing selama 5 menit. Berikutnya dilakukan tahapan rehidrasi preparat dimana preparat dimasukkan dalam alkohol bertingkat yang dimulai dari alkohol 100%, 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing selama 5

menit. Preparat direndam dalam akuades selama 5 menit. Tahapan pewarnaan dilakukan dengan preparat dimasukkan dalam pewarna *hematoxylen* hingga diperoleh hasil warna terbaik selama kurang lebih 10 menit. Preparat yang sudah diwarnai dengan *hematoxylen* dicuci dengan air mengalir selama 1 menit dan dimasukkan ke dalam HCl 0,6% selama 1 menit, dibilas dengan air mengalir selama 1 menit kemudian dimasukkan dalam *Lithium carbonat* 0,5% selama 3 menit, dibilas dengan air mengalir 1 menit dan dimasukkan dalam pewarna *eosin* selama 5 menit. Preparat dibilas kembali dalam akuades untuk menghilangkan kelebihan *eosin*. Tahapan dehidrasi dilakukan dengan preparat dimasukkan dalam seri alkohol bertingkat dari 70%, 80%, 90%, 95%, 100%. Proses selanjutnya adalah *clearing* yaitu dengan memasukkan preparat pada xylol lalu dikeringkan. Setelah semua proses selesai, dilakukan *mounting* dengan menggunakan entellan yang dijelaskan pada **(Lampiran 4)** (Susanto, 2014). Pengamatan preparat dilakukan secara menyeluruh di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x untuk mengamati perubahan pada jaringan otot.

#### **4.8.5 Pengukuran Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN)**

Kadar urea dalam darah ditentukan secara spektrofotometri dengan prinsip urea dihidrolisis menggunakan enzim urease menghasilkan amonia dan CO<sub>2</sub>. Amonia yang terbentuk direaksikan dengan salisilat, natrium hipoklorit, dan natrium nitroprusida menghasilkan indofenol.

Pengamatan dan pengukuran kadar BUN dilakukan dengan menyiapkan sampel serum tikus, reagen A1 (natrium salisilat 62 mmol/L,

natrium nitroprusida 3,4 mmol/L, *buffer* fosfat 20 mmol/L pH 6,9), reagen A2 (urease), reagen B (natrium hipoklorit 7 mmol/L, natrium hidroksida 150 mmol/L), dan larutan standar urea.

Persiapan reagen dilakukan dengan memindahkan isi dari botol reagen A2 ke dalam botol reagen A1 dan dicampur hingga merata. Reagen B dan larutan standar sudah siap digunakan. Peralatan tambahan yang dibutuhkan yaitu *water bath* 37°C dan spektrofotometer.

Prosedur pengukuran dilakukan dengan menyiapkan tiga buah tabung reaksi. Tabung reaksi 1 berisi reagen A 1 mL, tabung reaksi 2 berisi 10 µL larutan standar dan 1 mL reagen A, tabung reaksi 3 berisi 10 µL sampel dan 1 mL reagen A. Dihomogenkan pada masing-masing tabung reaksi dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan masing-masing tabung reaksi dengan reagen B sebanyak 1 mL, dihomogenkan kembali dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah itu dipindahkan larutan dari tabung reaksi ke dalam kuvet dan dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer. Pengukuran absorbansi standar dan sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm selama dua menit yang dijelaskan pada (**Lampiran 5**) (Biosystems, 2013).

#### 4.8.6 Analisis Statistik

Data penelitian berupa pengukuran kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dengan metode spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer. Selanjutnya, dilakukan analisa kuantitatif dengan dianalisis menggunakan

statistika dengan pola ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam *Analysis of Varians* (ANOVA).

Kemudian untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau *Tukey Test* dengan tingkat signifikansi  $\alpha=0,05$  menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *Statistical Package for The Social Science* (SPSS) version 16.0 for windows. Sementara itu, hasil pengamatan histopatologi jaringan otot dianalisa kualitatif secara deskriptif.





## BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Efek Pemberian Gliserol 50% terhadap Kadar *Blood urea nitrogen* (BUN) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hasil pengukuran kadar BUN diukur secara spektrofotometri, ditujukan untuk mengetahui kerusakan yang terjadi pada fungsi filtrasi ginjal akibat induksi gliserol.

**Tabel 5.1.** Rata-rata kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN)

Kelompok	Kadar BUN (mg/dL) (mean $\pm$ SD)	Peningkatan (terhadap kelompok I) (%)
Kelompok I (Kontrol Negatif)	19,1 $\pm$ 1,28 <sup>a</sup>	-
Kelompok II (Jam ke 1)	80,4 $\pm$ 4,49 <sup>b</sup>	79,4
Kelompok III (Jam ke 3)	101,6 $\pm$ 24,28 <sup>b</sup>	100,6
Kelompok IV (Jam ke 6)	156,1 $\pm$ 24,58 <sup>c</sup>	155,1
Kelompok V (Jam ke 12)	242,1 $\pm$ 16,29 <sup>d</sup>	241,1

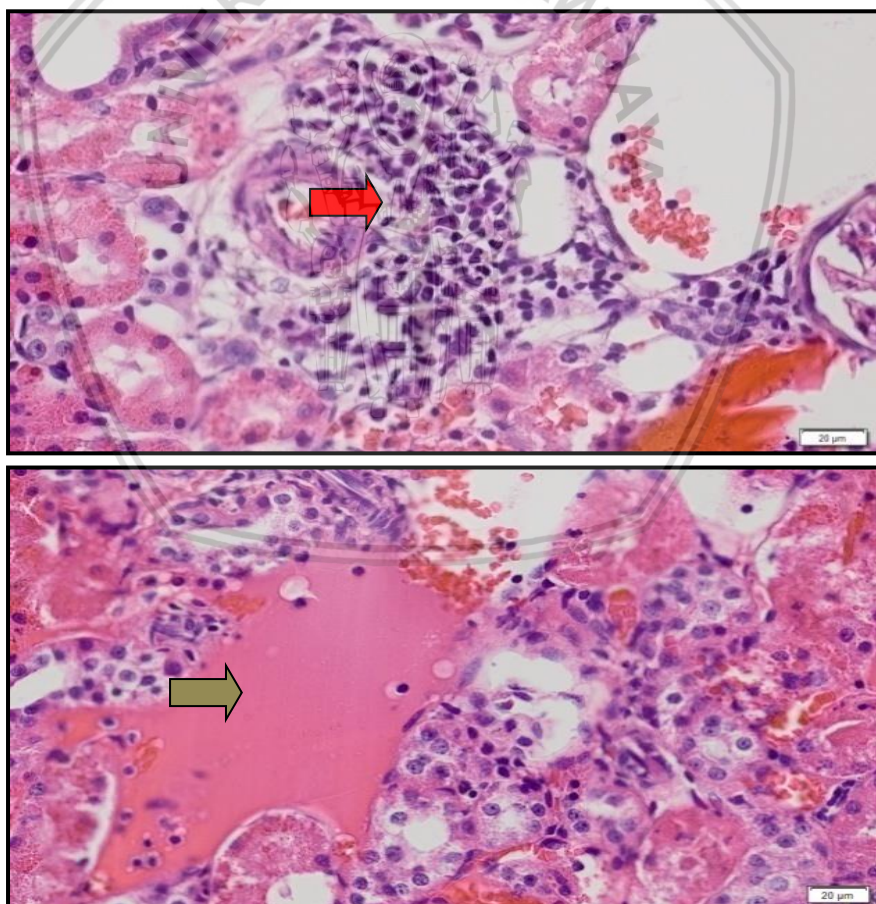
Keterangan : Notasi menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok perlakuan.

Hasil yang tertera pada **Tabel 5.1**, menunjukkan adanya peningkatan BUN secara signifikan ( $P < 0,05$ ). Hasil analisa statistik dengan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Rata-rata kadar BUN kelompok kontrol negatif yaitu 19,12 mg/dL dan dijadikan acuan keberhasilan induksi gliserol yang mampu meningkatkan kadar BUN dalam darah, hal ini diperkuat oleh Winarno dan Sundari (2010) yang menyatakan nilai normal urea pada



tikus yaitu 15-21 mg/dL. Lalu kelompok II dengan induksi gliserol 50% dosis 10 mL/kg BB dan post induksi gliserol pada jam ke 1 berbeda nyata dengan kelompok I, terjadi peningkatan kadar BUN yang signifikan. Kelompok III dengan induksi gliserol 50% dosis 10 mL/kg BB dan post induksi gliserol pada jam ke 3 berbeda nyata dengan kelompok I, terjadi peningkatan kadar BUN yang signifikan. Namun kelompok III tidak berbeda nyata dengan kelompok II yang ditunjukkan dengan rata-rata kadar BUN kelompok III yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok II. Lalu kelompok IV dengan induksi gliserol 50% dosis 10 mL/kg BB dan post induksi gliserol pada jam ke 6 berbeda nyata dengan kelompok I, terjadi peningkatan kadar BUN yang signifikan. Kelompok V dengan induksi gliserol 50% dosis 10 mL/kg BB dan post induksi gliserol pada jam ke 12 berbeda nyata dengan kelompok I, terjadi peningkatan kadar BUN yang signifikan.

Dari data tersebut menunjukkan adanya peningkatan kadar BUN terhadap induksi gliserol 50% dengan dosis 10 mL/kg BB yang dipengaruhi lamanya. Hal ini terlihat pada nilai rata-rata kadar BUN kelompok II hingga kelompok V mengalami peningkatan yang signifikan, jadi semakin lama gliserol berada dalam tubuh dapat menyebabkan meningkatnya kadar BUN dan menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal. Kerusakan di ginjal disebabkan oleh induksi gliserol yang merusak jaringan otot sehingga kadar mioglobin, protein intraseluler dan elektrolit meningkat kemudian terbawa aliran darah ke ginjal sehingga menyebabkan renal vasokonstriksi dan meningkatkan stres oksidatif pada ginjal. Sehingga menyebabkan kerusakan pada tubulus dan

peroksidasi lipid di lapisan fosfolipid membran sel ginjal sehingga membran sel rusak dan terjadi nekrosis pada tubulus ditunjukkan pada **Gambar 5.1**. Kerusakan pada tubulus ini menyebabkan terjadinya obstruksi pada glomerulus. Obstruksi pada glomerulus disebabkan oleh adanya deposisi myoglobin, dan berakibat menurunnya laju filtrasi glomerulus sehingga filtrat glomerulus/urin primer yang difiltrasi tidak maksimal. Menurunnya laju filtrasi glomerulus akan menyebabkan zat urea tidak terfiltrasi secara sempurna sehingga akan masuk kembali ke pembuluh darah dan dapat meningkatkan kadar BUN (Xavier *et al.*, 2009).



**Gambar 5.1** Gambaran histopatologi ginjal tikus kontrol positif diinduksi gliserol 50% pada jam ke-12 dengan pewarnaan HE. Perbesaran 400x.

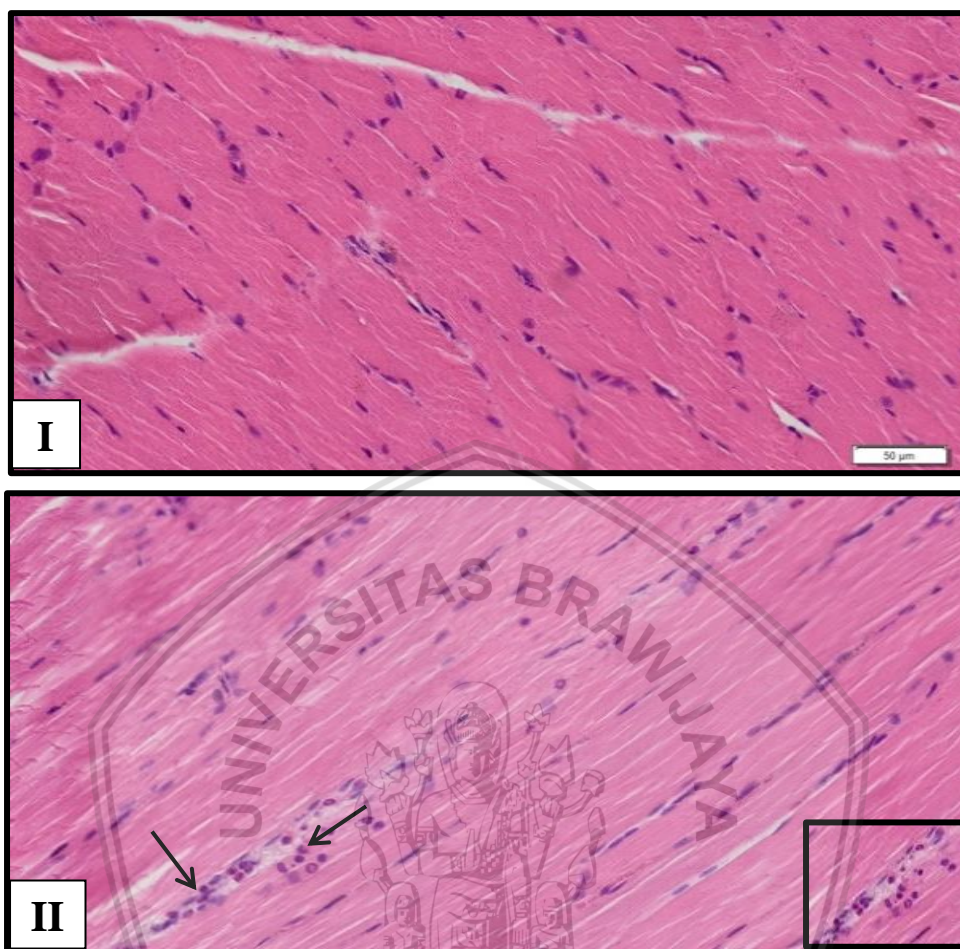
Keterangan :  Inflamasi interstitial pada glomerulus  
 Nekrosis liquefaktif pada tubulus

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian induksi gliserol 50% yang menyebabkan peningkatan kadar BUN akibat dari rhabdomyolisis tiap jamnya dipengaruhi oleh lamanya rentang waktu setelah diinduksi gliserol. Sesuai dengan hasil kadar BUN yang ditunjukkan oleh kelompok II sampai dengan kelompok V dimana dilakukan post induksi gliserol yang berbeda, pada kelompok II pada jam ke 1, kelompok III pada jam ke 3, kelompok IV pada jam ke 6, dan kelompok V pada jam ke 12 setelah diinduksi gliserol 50% dengan dosis 10 mL/kg BB memiliki kadar BUN yang menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif.

## **5.2 Pengaruh Induksi Gliserol 50% terhadap Histopatologi Otot Lurik Tikus (*Rattus norvegicus*).**

Dalam penelitian ini juga menggunakan parameter berupa histopatologi otot dengan pewarnaan *Hematoksilin-Eosin* (HE). Gambaran histopatologi digunakan untuk melihat perbedaan disetiap perlakuan pada otot lurik. Hasil histopatogi otot dibandingkan disetiap perlakuannya dengan mendiskripsikan gambaran histopatologi otot yang terlihat di mikroskop dengan perbesaran 400x. Histopatologi otot yang diamati berupa kondisi abnormal pada otot lurik yaitu akumulasi sel radang, nekrosis (**Gambar 5.2**). Dibawah ini adalah gambar hasil histopatologi dari penelitian yang dilakukan :





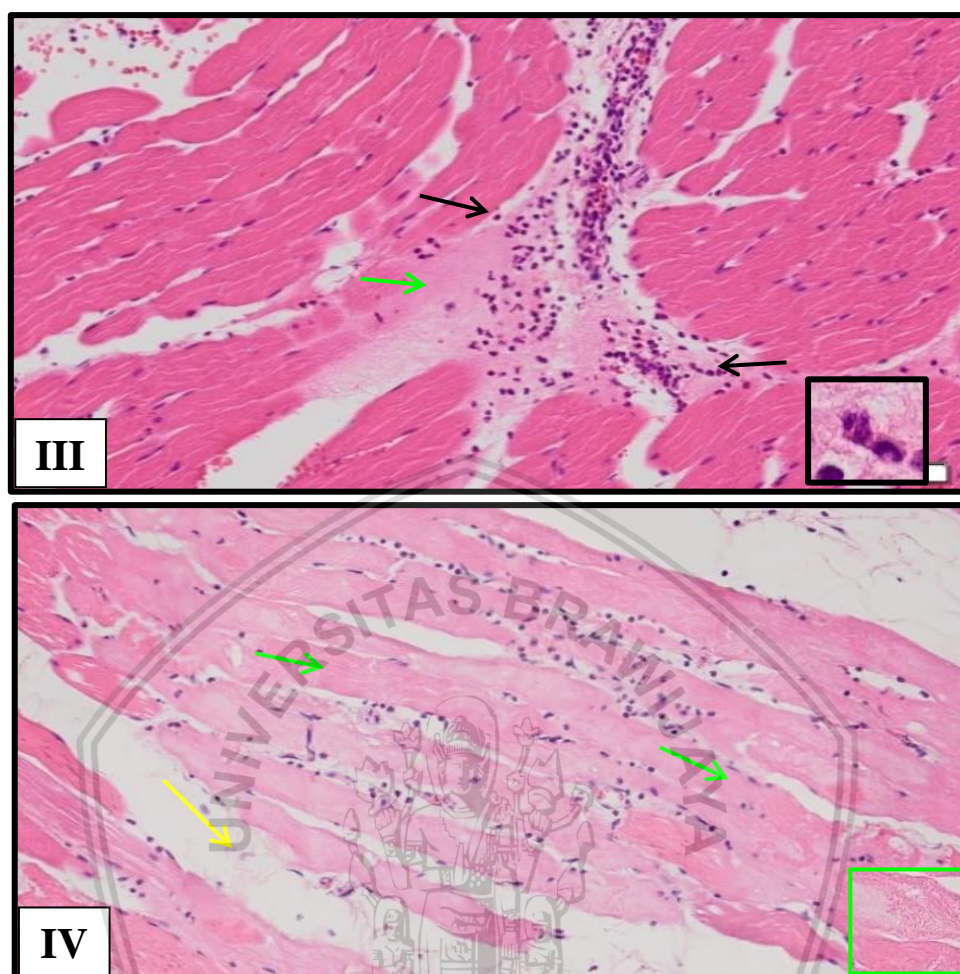
**Gambar 5.2 (I dan II)** Gambaran histopatologi otot lurik tikus putih dengan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE) perbesaran 400x.

Keterangan : Gambar I kontrol negatif, gambar II jam ke 1.  
→ : infiltrasi sel radang

Hasil dari pengamatan histopatologi otot lurik penelitian ini dibuat pada masing-masing perlakuan yaitu kelompok I merupakan kelompok kontrol negatif yang diinduksi menggunakan aquades steril sebanyak 10 mL/kg BB secara IM pada kedua kaki belakang, kelompok perlakuan II, III, IV, dan V diinduksi dengan gliserol 50% sebanyak 10 mL/kg BB secara IM pada kedua kaki belakang. Hasil gambaran histopatologi tikus yang didapatkan pada tikus perlakuan kelompok II, III, IV, dan V. Pada kelompok I (kontrol negatif) **Gambar 5.2 (I)** menunjukkan tidak adanya kerusakan yang ditandai dengan

struktur histologis otot yang normal, terlihat struktur yang berbentuk silindris, warna merah muda dan memiliki banyak nukleus pada bagian tepi. (Adiseshiah *et al.*, 2012).

Pada kelompok II (jam ke 1) yang telah diinduksi gliserol 50% sebanyak 10 mL/kg BB dan dilakukan pengamatan post induksi gliserol jam ke 1 terlihat struktur serat otot masih terlihat normal, tetapi ada beberapa letak nukleus yang tidak beraturan, serta adanya infiltrasi sel radang pada beberapa bagian **Gambar 5.2** (II). Hal ini dikarenakan otot yang sudah diinduksi gliserol yang menyerupai rhabdomiolisis menimbulkan kerusakan, sehingga menimbulkan adanya sel-sel radang. Infiltrasi sel radang adalah proses peradangan yang mencakup sel-sel radang dari pembuluh darah menuju ke jaringan luka. Sel radang sendiri merupakan reaksi yang mencegah agen yang membahayakan jaringan menyebar lebih luas sehingga mengakibatkan jaringan yang terkena diganti dengan jaringan yang baru. Sel radang dibagi menjadi 2, pada sel polimornukleus netrofil (PMN) yang terdiri dari leukosit : neutrofil, eosinofil, dan basofil. Yang kedua adalah sel mononuclear antara lain limfosit dan monosit. Sel limfosit yaitu jenis sel darah putih, yang merupakan bagian penting dari sistem kekebalan tubuh. Sedangkan sel eosinofil merupakan bagian dari sel darah putih yang pada umumnya memiliki dua lobus inti, dan memiliki warna eosin (merah muda), hal ini disebabkan oleh sitoplasma yang diisi oleh  $\pm 200$  butir granul yang berwarna merah muda (Mitchell *and* Cotran, 2003).



**Gambar 5.2 (III dan IV)** Gambaran histopatologi otot lurik tikus putih dengan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE) perbesaran 400x.

Keterangan : Gambar III jam ke 3, gambar IV jam ke 6.

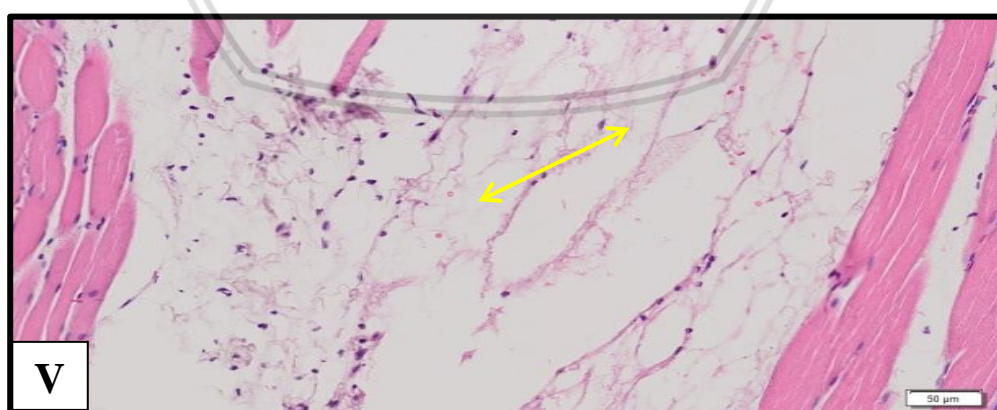
→ : infiltrasi sel radang      → : nekrosis liquifaktif  
 → ↔ : eksudat fibrin

Pada kelompok III (jam ke 3) yang diinduksi gliserol 50% sebanyak 10 mL/kg BB dan dilakukan pengamatan post induksi gliserol pada jam ke 3 terlihat semakin banyak bagian yang mengalami infiltrasi sel radang dibandingkan pada kelompok II dan terlihat jelas adanya nekrosis liquifaktif **Gambar 5.2 (III)**. Hal ini disebabkan oleh semakin lama post induksi gliserol, menyebabkan semakin rusaknya jaringan-jaringan otot, dan sifat gliserol yang hidrofilik dan higroskopik sehingga mudah berikatan dengan air yang dapat



menyebabkan pecahnya sel-sel jaringan otot, sehingga menimbulkan nekrosis liquifaktif. Nekrosis liquifaktif merupakan degenerasi dari sel yang menyebabkan perubahan pada nukleus khususnya pada sel yang mengalami neurotik (Gabow *et al.*, 2012).

Pada kelompok ke IV (jam ke 6) yang telah diinduksi menggunakan gliserol 50% sebanyak 10 mL/kg BB dan dilakukan pengamatan post induksi gliserol pada jam ke 6 terlihat pada **Gambar 5.2 (IV)** bahwa struktur serat otot dan nukleus semakin tidak beraturan, warna semakin pucat, serta terlihat adanya nekrosis liquifaktif yang semakin meluas dan disertai adanya eksudat fibrin. Hal ini disebabkan semakin menyebarnya jaringan otot yang pecah dan rusak akibat induksi gliserol, serta ada beberapa bagian yang sudah mengalami degenerasi, ditunjukkan dengan adanya eksudat fibrin. Eksudat fibrin merupakan jenis eksudat nonseluler yang terbentuk jika protein yang dikeluarkan dari pembuluh dan terkumpul pada daerah peradangan yang mengandung banyak fibrinogen (Slater *and* Mullins, 2008).

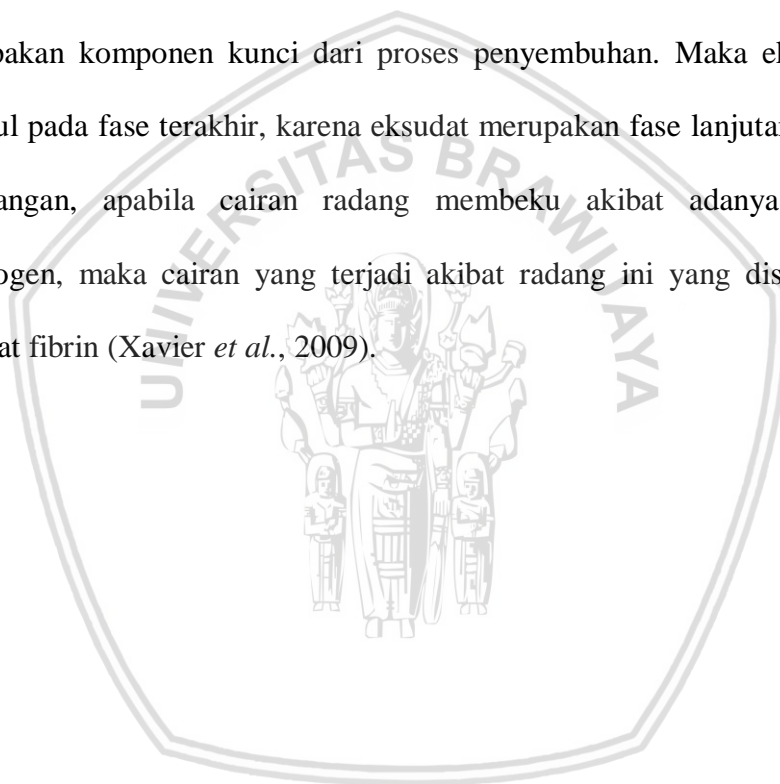


**Gambar 5.2 (V)** Gambaran histopatologi otot lurik tikus putih dengan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE) perbesaran 400x.

Keterangan : Gambar V jam ke 12.

→ ↔ : eksudat fibrin

Pada kelompok ke V (jam ke 12) yang diinduksi menggunakan gliserol 50% sebanyak 10 mL/kg BB dan dilakukan pengamatan post induksi gliserol pada jam ke 12, pada **Gambar 5.2** (V) terlihat adanya eksudat fibrin yang semakin banyak. Hal ini menunjukkan adanya degenerasi dari sel, karena terlihat bagiannya mengalami eksudat fibrin, yang berfungsi sebagai respon tubuh terhadap adanya sirkulasi saat terjadi inflamasi atau radang, dan merupakan komponen kunci dari proses penyembuhan. Maka eksudat fibrin muncul pada fase terakhir, karena eksudat merupakan fase lanjutan dari proses peradangan, apabila cairan radang membeku akibat adanya kandungan fibrinogen, maka cairan yang terjadi akibat radang ini yang disebut dengan eksudat fibrin (Xavier *et al.*, 2009).



## BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian induksi gliserol 50% dengan dosis 10 mL/kg BB secara intramuskular pada musculus bisept femoris tikus putih (*Rattus norvegicus*) mengalami kenaikan kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) secara signifikan dari waktu pos induksi jam ke 1 hingga jam ke 12 dibandingkan dengan kontrol negatif.
2. Pemberian induksi gliserol 50% dengan dosis 10 mL/kg BB secara intramuskular pada musculus bisept femoris tikus putih (*Rattus norvegicus*) mengalami kerusakan jaringan otot secara signifikan dari waktu pos induksi jam ke 1 hingga jam ke 12 dibandingkan dengan kontrol negatif.

### 6.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lanjutan terhadap waktu pengamatan pos induksi hewan model dan organ yang dipengaruhi untuk mengetahui organ mana saja yang terkena dampaknya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiseshiah. M, Round J.M., Jones D.A. 2012. Reperfusion injury in skeletal muscle: A prospective study in patients with acute limb ischemia and claudication treated by revascularization. *Br J Surg*. 79: 1026-1029.
- Biosystems. 2013. *Urea/BUN – Color*. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona, Spain.
- Boutaud, O and Roberts L.J.2011. Mechanism Based Therapeutic Approaches to Rhabdomyolysis Induced Renal Failure. *Free Radic Biol-Med*. 51(5): 1062-1067.
- Christoph, R., Schmidt, B., Stemmerner, U., Dilla, W., Karinen, R. 2006. Glycerol. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. pp 47-500.
- Curry, S.C., Chang, D., and Connor, D. 2009. Drug and Toxin Induced Rhabdomyolysis. *Ann Emer. Med*. 18:1068-1084.
- Deighan, C. J., Wong, K. M., McLaughlin, K. J., Harden, P. 2000. Rhabdomyolysis and Acute Renal Failure Resulting from Alcohol and Drug Abuse. *QJM*. 93: 29-33.
- De Jesus Soares, T., Volpini, R. a., Francescato, H. D. C., Costa, R. S., da Silva, C. G. a., Coimbra, T. M. 2007. Effects of Resveratrol on Glycerol-Induced Renal Injury. *Life Sci*. 81(8):647-656.
- Evans, H. E. and A. deLahunta. 2013. *Miller's Anatomy of the Dog*. 4<sup>th</sup> ed. Missouri (US) : Elsevier Saunders.
- Fauzi, Ahmad. H. Tinny Endang, M. Rasjad Indra, T. Nurina. 2016. Acute Renal Failure due to Rhabdomyolysis. *International Journal of PharmTech Research*. 9(9): 421-427.
- Gabow P.A., Kaehny W.D., Kelleher S.P. 2012. The spectrum of rhabdomyolysis. *Medicine (Baltimore)*. 61: 141-152.
- Jacobson, L. S., Lobetti, R. G. 2016. Rhabdomyolysis as a Complication of Canine Babesiosis. *Small Animal Pract*. 37(6): 286-91.
- Knochel, J. P. 2013. Mechanisms of Rhabdomyolysis. *Curr Opin Rheumatol*. 5: 725-31.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Pernacangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lin, E. C. C. 2009. Glycerol Utilization and Its Regulation in Mammals. *Ann. Rev, Biochem*. 46:765-95.

- Lochhead, M, Zager, A., 2008. Anesthetic Effects on the Glycerol Model Induced Acute Renal Failure in Rats of Rhabdomyolysis. *J Clin Invest.* 89;989-995.
- Mitchell, R.N. & Cotran, R.S. 2003. Acute and chronic inflammation. In S. L. Robbins & V. Kumar, *Robbins Basic Pathology* (7<sup>th</sup> ed.). pp 33-59. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Mutiyani, M. 2005. *Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan dengan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kepadatan Sel Beta Pankreas pada Rattus novvergicus Strain Wistar* [Skripsi]. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Nurhidayat, K. Sigit, H. Setijanto, S. Agungpritono, C. Nisa', S. Novelina, dan Supratikno. 2011. *Osteologi dan Miologi Veteriner*. Bogor (ID): IPB Press.
- Piercy, R. J., Hinchcliff, K. W., Morley, P. S., Di Silvestro, R. A., Reinhart, G. A., Nelson, S. L. Jr., Schmidt, K. E., Craig, A. M. 2001. Vitamin E and Eertional Rhabdomyolysis During Endurance Sled Dog Racing. *Neomuscul Disorder.* 11(3):278-86.
- Porter, W. P. 2005. *Rats and Mice: Introduction and Use in Research*. Cincinnati, Ohio. Laboratory Animaland Science, Marion Merrel Dow Inc.
- Rasyad, A, M. Putra dan H. Yasmin. 2012. *Uji Nefrotoksik dari Ekstrak Etanol Biji Mahoni (Swietenia mahagoni Jacq.) terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar*. [Skripsi]. Universitas Bhakti Pertiwi, Sumatera Selatan, Indonesia.
- Schrier, R. W. 2008. *Blood Urea Nitrogen and Serum Creatinene not Married in Heart Failur*. *Circ Heart Fail.* 1:2-5.
- Setiawan, B. dan S. Eko. 2007. Peroksidasi Lipid dan Penyakit Terkait Stres Oksidatif pada Bayi Prematur. *Majalah Kedokteran Indonesia Vol : 57*. Bagian Kimia Kedokteran-Kelompok Studi Radikal Bebas dan Pemanfaatan Bahan Alam. Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat.
- Singh, A. P., Junemann, A., Muthuraman, A., *et al.* 2012. Animal Models of Acute Renal Failure. *Pharmacol Rep.* 64(1):31-44.
- Slater M.S., Mullins R.J. 2008. Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in trauma and surgical patients: A review. *J Am Coll Surg.* 186: 693-716.
- Susanto, F. K. 2014. *Studi Ekspresi Transforming Growth Factor Beta (TGF- $\beta$ ) dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus (Rattus novvergicus) Fibrosis Ginjal Hasil Induksi Streptokinase Pasca Pemberian Air Rebusan Kacang Kedelai*. [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.

- Winarno, M. W. dan D. Sundari. 2010. Uji Toksisitas Sub Kronik Ekstrak Daun Kembang Sungsang (*Gloriosa super L*) terhadap Fungsi Ginjal Tikus Putih. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 38 (4): 186-191.
- Wulandari, A. D., S. Chasani dan A. Ismail. 2012. *Hubungan Dislipidemia dengan Kadar Ureum dan Kreatinin Darah pada Penderita Nefropati Diabetik*. [Thesis]. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Xavier Bosch, M.D., Ph.D., Esteban Poch, M.D., Ph.D., and Josep M. Grau, M.D. PD. 2009 From Rhabdomyolysis and Acute Kidney Injury. *N Engl J Med*. 361: 62-72
- Zager, R. A. F. C. 2012. Effects of in Organic Iron and Myoglobin on In Vitro Proximal Tubular Lipid Peroxidation and Cytotoxicity. *J Clin Invest*. 89:989-995.

